BULLETIN INTERNATIONAL

DE L'ACADEMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE.

Février 1899.

H. Hoyer: O zachowaniu się jąder podczas konjugacyi wymoczka Colpidium colpoda St. (*Über das Verhalten der Kerne bei der Conjugation des Infusors Colpidium colpoda St.*) Vorläufige Mitteilung.

Extrait du Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie.
Février 1899.

4. — H. Hoyer: **O zachowaniu się jąder podczas konjugacyi wymoczka Colpidium colpoda St.** (***Über das Verhalten der Kerne bei der Conjugation des Infusors Colpidium colpoda St.***) Vorläufige Mitteilung.

Nachdem der Ver. einzelne Phasen der Conjugation bei verschiedenen Arten von Infusorien untersucht hatte, stellte es sich heraus, dass die Species Colpidium colpoda das geeignetste Object zum Studium abgeben würde, weil an diesem die Kerntheilungsvorgänge einen verhältnismässig noch einfachen Verlauf nehmen und weil das Material in grösseren Mengen leicht zu beschaffen ist. Bei Gelegenheit einer Untersuchung der Züchtungsgläser fand sich in einem derselben eine sogenannte Conjugationsepidemie vor. Das gesammte Material wurde daher sogleich in einer Mischung von 1 Volumen einer $5^0/_0$ Sublimatlösung und 2 Volumina einer $3^0/_0$ Kaliumbichromatlösung fixiert und in folgender Weise für die Untersuchung weiterbehandelt. Nachdem sich die Objecte in der Fixierungsflüssigkeit sedimentiert hatten, wurde dieselbe so oft durch Wasser ersetzt, bis sich letzteres nicht mehr gelb färbte. Alsdann wurden die Objecte in bekannter Weise consecutiv durch Alkohol, Chloroform, Chloroform und Paraffin und schliesslich durch rei-

nes Paraffin hindurchgeführt und in letzterem eingeschlossen. Demnächst wurden genaue Serienschnitte von 4 μ Dicke angefertigt, auf Objectträger mittelst Wasser aufgeklebt und nach Beseitigung des Paraffins entweder nach der Eisen-Hämatoxylin-Methode von Heidenhain tingiert, oder, was sich als vortheilhafter erwies, nach einer kurzen Vorfärbung mit Ehrlichschem Hämatoxylin mit Ehrlich-Biondi'schem Gemisch gefärbt.

Die geschilderte Untersuchungsmethode erwies sich nicht allein für das Studium der Kernveränderungen sehr günstig sondern auch für die Erschliessung der Structur von Colpidium.

Die Streifung der Pellicula wird bedingt durch meridional verlaufende dunkele Leisten und helle Furchen. Dieselben haben ihre grösste Breite am grössten Umfange der Thiere und verschmälern sich nach den beiden Enden zu und zwar am vorderen Ende bereits in der Höhe des Mundes, am hinteren erst auf der kuppelartigen Wölbung. Bei differenter Färbung erscheinen die Leisten in dem hinteren, breiteren Abschnitte zwei-, im vorderen einzeilig, und jede Zeile setzt sich aus regellos auf einander folgenden Punkten und Strichen zusammen. Nur im vorderen einzeiligen Abschnitt besteht jede Zeile ausschliesslich aus Punkten. Die Furchen werden durch in regelmässigen Abständen auf einander folgende dunklere Querlinien in eine Reihe von Quadraten getheilt, in deren Mitte ein feines Pünktchen sichtbar wird. Die Cilien stehen auf den Leisten und senken sich an den Punkten der Zeilen in die Tiefe ein. Sie sind ebenso wie die Cilien der Flimmerzellen mit kurzen Basalkörperchen versehen, welche von der Oberfläche betrachtet eben als Punkte erscheinen. Die Bedeutung der Striche der Zeilen konnte nicht eruiert werden.

Nach den Befunden des Verf. hat das Protoplasma eine gerüstartige Structur und enthält beim Beginne der Conjugation wenigstens noch zahlreiche Bakterien und mit Biondi sich roth färbende Körnchen.

Die Membranzellen des Mundes bestehen aus mit einander verklebten Cilien, welche ebenso wie die der Körperoberfläche mittelst Basalkörperchen in das Protoplasma eingelassen

sind. Der Porus der contractilen Vacuole ist stets vorhanden, eine gesonderte Afteröffnung konnte nicht beobachtet werden.

Die Kerne entbehren, nach der Ansicht des Verfassers, einer eigenen Membran. Dieselbe wird von dem verdichteten Netzwerk des Cytoplasma gebildet. Der Inhalt des Makronucleus besteht aus einem sehr feinen Gerüst von Protoplasma, welches mit chromatischen Körnern dicht angefüllt ist. Der sich stets sehr intensiv färbende Mikronucleus lässt eine eben noch sichtbare Granulierung der chromatischen Substanz und bei günstiger Lage einen derselben kalottenartig aufsitzenden achromatischen Abschnitt erkennen.

Die Vereinigung zweier Individuen von Colpidium colpoda zum Zwecke der Conjugation erfolgt mit dem als Stirn bezeichneten Körperabschnitt. Doch ist die Vereinigung zunächst noch eine äusserliche, indem an der Berührungsstelle beider Thiere eine vollkommene Scheidewand besteht.

Nach erfolgter Copulation beginnt der Mikronucleus in beiden Thieren gleichzeitig sich zu vergrössern. Alsdann geht derselbe in das Stadium des Knäuels über und weiterhin in das Stadium des in Fig. 1 abgebildeten Muttersterns Die vorher noch unsichtbare achromatische Substanz hat sich hier zu verhältnismässig dicken Fäden angeordnet und bildet eine ausgesprochene Spindel, deren Pole an die Umhüllungsmembran heranreichen, ohne dass an diesen Stellen gesonderte Polkörperchen sichtbar wären. Der Aequator der Spindel wird von schleifenartigen, kurzen Chromosomen eingenommen, deren Anzahl nicht bestimmt werden konnte. Hierauf folgt das Stadium des Doppelsterns. Die Chromosomen theilen sich zuvor in ihrer Längsrichtung und wandern nach den Polen auseinander.

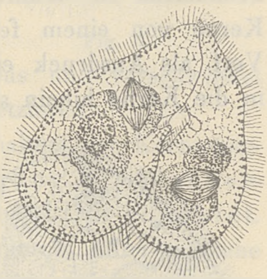


Fig. 1.

Die weiteren Umgestaltungsvorgänge des Kerns hat Verf. nicht direkt zu beobachten vermocht, doch lässt sich aus dem Verlauf der späteren Theilungen schliessen, dass die Spindel

sich streckt, Hantelform annimmt und sich schliesslich durchschnürt.

An diese erste Theilung schliesst ohne Eintritt eines Ruhestadiums die zweite an, welche in der gleichen Weise wie die erste Theilung verläuft, nur verkleinert sich dabei das Volumen der Kerne etwa um die Hälfte. Die entstandenen vier Kerne stimmen anfangs in ihrer Structur, ihrem Volumen und ihrer Form unter einander vollkommen überein. Alsbald aber beginnt derjenige Kern, welcher der Scheidewand, die beide Thiere noch trennt, am nächsten liegt, sich zu vergrösseren und sich zu einer weiteren Theilung anzuschicken, während die übrigen drei Kerne in das Innere des Zelleibes zurückweichen, sich verkleinern und eine unregelmässige Form annehmen. Es sind dies die Reductionskerne, welche den bei der Befruchtung der Metazoëneier ausgestossenen Richtungskörpern entsprechen. Der am Septum gelegene Kern theilt sich wie die vorigen mitotisch und die beiden Tochterkerne weichen in entgegengesetzen Richtungen auseinander, der eine, der Wanderkern zum Septum, der andere, der stationäre Kern der Autoren, nach dem Makronucleus zu. Während dieses ganzen Processes werden die Kerne von einem feinen Strahlenkranze umgeben, welchen Verf. als Ausdruck einer Protoplasmadiffusion aus der Zelle in die Kerne hinein ansieht, da die Tochterkerne eine bedeutende Volumensvergrösserung erfahren. Die Strahlung nimmt am stationären Kern allmählich ab, am Wanderkern dagegen sowie am ganzen Septum zu. Wie Fig. 2 zeigt, drängen die Wanderkerne von jeder Seite her gegen das Septum an. Unter dem Drucke giebt das bis zu diesem Zeitpunkt unversehrte Septum nach, und es entsteht ein ovaler Spalt (Fig. 3), durch welchen die Kerne an einander vorbei in das Nachbarthier gleiten. In Fig. 2 ist der rechtsseitige Kern noch nicht übergewandert,

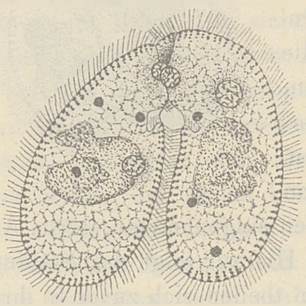


Fig. 2

sondern hat das Septum nur vorgewölbt und hat dabei eine ovale Form angenommen, der linksseitige dagegen befindet sich gerade im Durchtritt. Während die oben erwähnte Strahlung an den übergewanderten Kernen verschwindet bleibt dieselbe an der Septumsöffnung noch eine längere Zeit bestehen. Verf. vermutet, dass auch hier der Übertritt von Protoplasma aus einem Thier in das andere die Strahlungserscheinung verursacht.

Sobald die Kerne in das Nachbarthier übergewandert sind, nehmen sie, wie Fig. 3 zeigt, unter Zunahme ihres Volumens eine ovoïde Form an. In ihrem Innern ordnet sich die chromatische Substanz in längsverlaufenden Fäden an, welche aus verhältnismässig dicken perlschnurartig aufgerichten Chromatinkörnern zusammengesetzt erscheinen. Der in der Nähe des Makronucleus befindliche stationäre Kern verdichtet sich und nimmt infolge dessen eine intensivere Färbung an. Unter fortschreitender Verdichtung erhält der Kern ein granuliertes Aussehen ähnlich dem des Makronucleus und verschwindet schliesslich unter den Fragmenten des letzteren.

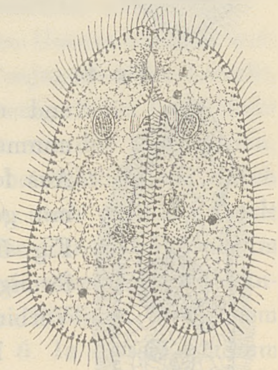


Fig. 3.

Wie aus der Beschreibung des Verhaltens der Kerne hervorgeht, hat der Verf. eine Vereinigung des Wanderkerns mit dem stationären Kern nicht beobachtet. Auch die wiederholte nach dieser Richtung unternommene Durchmusterung der Praeparate führte stets zu dem gleichen Resultate, dass nämlich eine Copulation der Kerne nicht stattfindet. Auch Maupas hat, wie er selbst zugiebt, dergleichen nicht beobachtet, nimmt aber auf seine positiven Befunde an andern Infusorienarten gestützt auch für Colpidium eine Vereinigung der Kerne an.

Der Wanderkern, der in dem in Fig. 3 abgebildeten Stadium eine ovoïde Form hatte, beginnt stark in die Länge zu wachsen und die Form einer lang ausgezogenen Spindel anzu-

nehmen. Wie Fig. 4 zeigt, verlaufen äusserst feine chromatische Fäden spiralig gewunden von Pol zu Pol und setzen sich daselbst mit einer knopfartigen Verdickung an die Membran an, welche die Spindel umgiebt. Hat die Spindel ungefähr die Länge des ganzen Thieres erreicht, so rückt dieselbe in toto in das Hinterende des Thieres, indem sie sich der Wölbung desselben entsprechend krümmt. Gleichzeitig theilt sich die ganze Kernsubstanz und rückt nach den Spindelenden, welche nunmehr keulenförmige Verdickungen bilden. Aus letzteren gehen alsdann typische Kerne mit gerüstförmiger Structur hervor, die, wie Fig. 5 zeigt, eine Zeit lang durch ein röhrenförmiges Verbindungsstück mit einander in Verbindung bleiben.

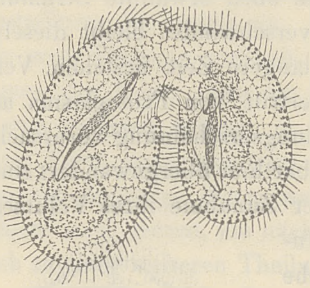


Fig. 4.

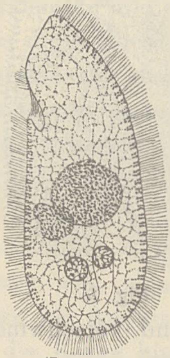


Fig 5.

Nach einer kurzen Ruhepause theilen sich beide Kerne wiederum, jedoch nach dem Schema der Mitose. Hierbei ist die Lage der karyokinetischen Figuren sehr charkteristisch: dieselben liegen stets dicht am hinteren Leibesumfang und der Längsachse des Thieres parallel. Aus der Theilung resultieren vier Kerne, von denen das eine Paar hart an der Pellicula des Hinterendes sich befindet, das andere in der Nähe des Makronucleus (vergl. Fig. 6). Anfangs haben alle vier Kerne gleiche Grösse und gleiches Aussehen. Bald aber ändert sich dies Verhältnis, indem das hintere Paar Kerne sich

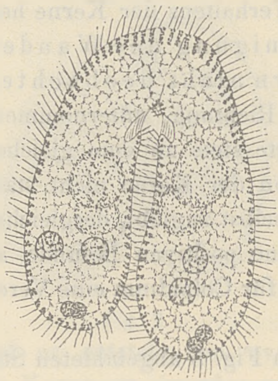


Fig. 6.

verkleinert und daher auch intensiver gefärbt erscheint (vergl. Fig. 6).

Mit diesen Veränderungen der Kerne erreicht die Conjugation der Thiere ihren Abschluss, und die bisher vereinigten Individuen trennen sich von einander. Die Kerne unterliegen allerdings in den isolierten Thieren noch weiteren Umgestaltungen, welche zur Ausbildung des Mikronucleus, besonders aber zur Neubildung des Makronucleus führen. Es ist daher nothwendig, das Verhalten des ursprünglichen Makronucleus hier nachzuholen und dann sein weiteres Schicksal zu verfolgen.

Im Vergleich zu den verschiedenen Umwandlungen, welche der Mikronucleus im Verlaufe der Conjugation durchmacht, verändert sich der Makronucleus nur wenig. Seine Lage bleibt im grossen und ganzen die gleiche wie vor der Conjugation, dagegen ändert sich seine Form recht beträchtlichtlich, durch mannigfache Auswüchse. Hiermit steht auch wohl die locale Anhäufung resp. der locale Schwund der Chromatinkörner im Innern des Kerns in Zusammenhang. Ohne wesentlichere Veränderungen erreicht der Makronucleus das Stadium, in welchem sich die letzten vier Kerne bilden Fig. 6. In diesem Stadium aber schnürt er sich in zwei fast vollkommen gleiche Theile durch, die sich abrunden und meistens ziemlich dicht beisammen bleiben. Jeder der beiden Theile fällt alsdann einer allmählich zunehmenden Degeneration anheim, welche sich durch Schrumpfung der Kernsubstanz und durch die damit verbundene nur scheinbare Abhebung der Kernmembran bekundet (Fig. 7). Gleichzeitig schwindet auch die Tinctionsfähigkeit des Chromatins. Letzteres schrumpft unter fortschreitender Degeneration in jedem Theilkern zu einem kleinen formlosen Klümpchen zusammen, während der Raum, welcher von dem Makronucleus resp. seinen beiden Hälften eingenommen worden war, als solcher weiterhin bestehen bleibt.

Während der Makronucleus sich in der soeben beschriebenen Weise rückbildet, beginnt sich bereits der neue Makronucleus zu entwickeln. Nach der Ansicht des Verf. geht derselbe aus dem hinteren Kernpaar der Fig. 6 hervor, das, wie

bereits erwähnt wurde, einige Zeit nach erfolgter Theilung sich verkleinert und eine intensivere Färbung annimmt. Alsdann scheinen sich die Chromosomen zu verflüssigen, da das granulierte Aussehen der Kernsubstanz vollkommen schwindet und der ganze Kerninhalt homogen wird. Der Vorgang macht den Eindruck einer ausgesprochenen Chromatolyse. Zugleich machen sich anfangs nur geringe, später recht bedeutende Unterschiede in der Grösse der Kerne bemerkbar, indem ein Kern an Volumen zu, der andere abnimmt. Hierbei steigert sich, wie Fig. 7. zeigt, gleichzeitig die Intensität der Färbung, so dass die Kerne gleichmässig dunkel erscheinen. Unter fortschreitendem Wachstum des grösseren der Kerne, verkleinert sich der andere und verschwindet schliesslich vollständig, so dass also in einem einzelnen Thiere dann 2 alte Makronuclei in der Mitte, ein grosser neuer mehr am Hinterende und 2 Mikronuclei in der vorderen Hälfte des Thieres zu finden sind.

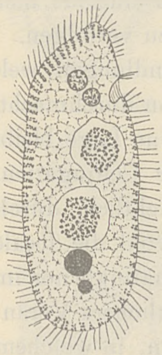


Fig. 7.

Aus dem grossen homogenen Makronucleus geht alsdann der bleibende Makronucleus hervor, indem derselbe in die Mitte des Thieres wandert und feinkörnig wird. Unter Umständen ergiesst er seinen Inhalt in den Raum, welcher nach der Degeneration des alten Makronucleus noch fortbesteht, und nimmt daher genau denselben Platz ein wie der alte. Auch die Mikronuclei scheinen einen chromatolytischen Process durchzumachen und, da auch gleichzeitig das Protoplasma feiner und dichter wird, so glaubt Verf., dass es sich in diesem Stadium um eine völlige Umbildung des ganzen Thieres handelt, wobei die Pellicula, Mundöffnung, das Protoplasma und die Kerne eine neue Structur erhalten (an der Pellicula macht sich die Erneuerung durch eine sehr lebhafte Färbung geltend).

In dem zuletzt geschilderten Stadium enthält das Thier einen Makro- und 2 Mikronuclei. Es erfolgt nun die Quertheilung des Thieres, welche Verf. wegen Mangel an Material nicht

näher untersuchen konnte. Das Thier streckt sich (sammt dem Makronucleus) in die Länge und schnürt sich dann in der Mitte quer durch. Auf diese Weise wird der Makronucleus halbiert und jedes Tochterthier enthält nunmehr einen Makronucleus, womit der Conjugationsprocess abgeschlossen ist.

An den descriptiven Theil der Arbeit knüpft der Verf. noch einige Bemerkungen über den Theilungsvorgang der Kerne der Ciliaten und denjenigen der Metazoën. Er wendet sich zunächst gegen die Behauptung Heidenhains, dass nämlich das Centrosoma der Metazoënzelle sich aus dem achromatischen Theil des Mikronucleus der Infusorien entwickelt haben soll. Nach der Ansicht des Verf. haben sich die Ciliaten bereits so frühzeitig von dem Stamme der Protozoën abgezweigt und in eigener Weise weiter entwickelt, dass die Ableitung des Centrosomas aus dem Mikronucleus nicht zulässig ist. Dagegen glaubt der Verf., den achromatischen Theil des Mikronucleus mit dem Nucleolus von Pflanzen in Parallele setzen zu dürfen, da, wie mehrere Autoren nachgewiesen haben, sich aus letzterem, ebenso wie bei Ciliaten aus dem achromatischen Theil des Mikronucleus bei der Kerntheilung die Spindel entwickelt.

Bei einem Vergleich des Befruchtungsvorganges von Metazoën mit dem Conjugationsprocess von Colpidium findet man eine Ubereinstimmung nur in den beiden Reductionstheilungen, im weiteren Verlauf der Conjugation treten bezüglich des Verhaltens der Kerne so wesentliche Abweichungen vom Befruchtungsvorgang auf, dass ein Vergleich nicht mehr möglich ist, besonders wenn man berücksichtigt, dass keine Copulation der Vorkerne sondern nur ein Austausch der Wanderkerne statt findet. Dass eine derartige „Befruchtung“ wohl möglich ist, dafür sprechen die neueren experimentellen Untersuchungen, wonach kernlose Eifragmente durch das Eindringen des Spermas mit Erfolg befruchtet werden können und entwickelungsfähig sind.

Cracovie, 1899. — Imprimerie de l'Université Jagellonne.

näher untersuchen konnte. Das Thier streckt sich (sammt de Makronucleus) in die Länge und schnürt sich dann in der Mit quer durch. Auf diese Weise wird der Makronucleus halbir und jedes Tochterthier erhält zunächst einen Makronucleu womit der Conjugationsprocess abgeschlossen ist.

An den descriptiven Theil der Arbeit knüpft der Verf. no einige Bemerkungen über den Theilungsvorgang der Kerne d Ciliaten und denjenigen der Metazoën. Er wendet sich zu nächst gegen die Behauptung Heidenhain's, dass nämlic das Centrosoma der Metazoenzelle sich aus dem achromatische Theil des Mikronucleus der Infusorien entwickelt haben so Nach der Ansicht des Verf. haben sich die Ciliaten sowie s frühzeitig von dem Stamme der Protozoen abgezweigt und i eigener Weise weiter entwickelt, dass die Ableitung des Ce trosomas aus dem Mikronucleus nicht zulässig ist. Dageg glaubt der Verf. den achromatischen Theil des Mikronucleus m dem Nucleolus von Pflanzen in Parallele setzen zu dürfen, d wie mehrere Autoren nachgewiesen haben, sich aus letzterem ebenso wie bei Ciliaten aus dem achromatischen Theil des M kronucleus bei der Kerntheilung die Spindel entwickelt.

Bei einem Vergleich des Befruchtungsvorganges von Me tazoën mit dem Conjugationsprocess von Colpidium findet ma eine Uebereinstimmung nur in den beiden Reifungstheilunge im weiteren Verlauf der Conjugation treten bezüglich des Ver haltens der Kerne so wesentliche Abweichungen vom Be fruchtungsvorgang auf, dass ein Vergleich nicht mehr möglic ist, besonders wenn man berücksichtigt, dass keine Copulatio der Vorkerne sondern nur ein Austausch den Wanderkern statt findet. Dass eine derartige „Befruchtung" wohl möglic ist, dafür sprechen die neueren experimentellen Untersuchu gen, wonach kernlose Eifragmente durch das Eindringen de Spermas mit Erfolg befruchtet werden können und entwick lungsfähig sind.

VERITAS